STUDIEN ÜBER DIE VERWENDBARKEIT EINES NEUEN EIWEISSKÖRPERS FÜR BACTERIOLOGISCHE KULTURZWECKE

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT FREIBURG

(SCHWEIZ)

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

VORGELEGT VON

JOSEF LABOSCHIN

APOTHEKER AUS BERLIN

BERLIN 1898

DRUCK VON ALB. SAYFFAERTH, BÜLOW-STRASSE 57

(Ausgeführt im hygienisch. Institut d. Kgl. Universität zu Berlin)

STUDIEN ÜBER DIE VERWENDBARKEIT EINES NEUEN EIWEISSKÖRPERS FÜR BACTERIOLOGISCHE KULTURZWECKE

INAUGURAL-DISSERTATION

DER

MATHEMATISCH-NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT

DER

UNIVERSITÄT FREIBURG
(SCHWEIZ)

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

VORGELEGT VON

JOSEF LABOSCHIN
APOTHEKER AUS BERLIN

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

BERLIN 1898
DRUCK VON ALB. SAYFFAERTH, BÜLOW-STRASSE 57

SEINEM LIEBEN VATER

UND

SEINER UNVERGESSLICHEN MUTTER

GEWIDMET

VOM

VERFASSER.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545307_0049

Die nachfolgende Arbeit wurde auf Veranlassung und unter Leitung der Herren Professoren *Dr. Rubner*, Direktor des hygienischen Instituts der Königl. Universität zu Berlin und *Dr. Günther* ausgeführt, denen ich für ihre vielfache Anregung und Förderung meines Studiums auch an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank ausspreche.

EINLEITUNG.

Die Bakterien beanspruchen für ihr Gedeihen vorzüglich stickstoff- und kohlenstoffhaltige organische Substanzen von alkalischer Reaktion. *Pasteur* und *Cohn* haben die ersten derartigen Versuche gemacht und folgende, des geschichtlichen Interesses halber, hier angeführten Vorschriften gegeben:

Die *Pasteur*'sche bestand aus:

1 Teil weinsaurem Ammon,
10 Teilen Candiszucker und der Asche von 1 Teil Hefe auf 100 Teile Wasser.

Die *Cohn*'sche aus:

0,5 phosphorsaurem Kalk,
0,5 schwefelsaurer Magnesia,
0,05 dreibasisch phosphors. Kalk auf 100,0 Wasser und
1,0 weinsaurem Kalk.

Später suchte man Lösungen herzustellen, die den Bakterien in ihrem natürlichen Vorkommen entsprachen, und so bereitete man denn für die verschiedenen Arten

verschiedene Lösungen, so für die saprophytischen Arten, die speziell auf pflanzlichen Stoffen vorkommen, Aufgüsse von Heu, Weizen, Erbsenstroh, Kartoffeln, auch Pflaumendekokte, andere, die in Exkrementen von Mensch und Tier beobachtet wurden, züchtete man auf Auszügen von Mist; für jene Spezies endlich, die im menschlichen und tierischen Organismus vorkommen, stellte man Flüssigkeiten her, die annähernd dem Verhalten und der Zusammensetzung der Körpersäfte entsprach; dieselben enthielten Eiweiss- und Extraktivstoffe in annähernd derselben Menge, wie sie ungefähr im Blute vorhanden sind.

Als ein sehr zweckmässiges Mittel erwies sich nun eine Abkochung von gehacktem Fleisch.

Beim Kochen des Fleischwassers gehen die meisten in demselben enthaltenen Eiweisssubstanzen durch Koagulierung verloren. Um nun der Nährlösung einen möglichst hohen Gehalt an Eiweissstoffen zu geben, fügte man bisher etwa 1 Proz. Pepton (das nicht koagulierbar) und ausserdem, um die Lösung des Peptons zu befördern, $^1/_2$ Proz. Kochsalz zu.

Bis dahin kannte man nur flüssige Nährböden. Durch die Schaffung eines festen Nährbodens konnte eine grosse Anzahl bisher ganz unbekannter Eigenschaften der Mikroorganismen erkannt werden, die wesentlich dazu beitrugen, wichtige vergleichende Merkmale zur Unterscheidung der einzelnen Arten zu liefern.

So bot zunächst die Kartoffel als erster fester Nährboden Vieles dar, was wesentlich dazu beitrug, unsere bis dahin so lückenhaften Kenntnisse auf diesem Gebiete zu erweitern.

Der Scharfblick eines *Koch* wusste diese Vorteile genügend zu würdigen und im vollen Umfange zu verwerten.

Er ging von der Kultur der Bakterien auf der Kartoffel aus und verstand es vorzüglich, die festen Nährböden weiter auszubilden und hiermit die Veranlassung zu dem überraschenden Aufschwung zu geben, den die Bakterienkunde in den letzten Jahren genommen hat.

Es war ein glänzender Gedanke von *Koch,* einen festen, durchsichtigen Nährboden zu schaffen.

In der *Hoppe-Seyler*'schen Zeitschrift für physiologische Chemie[1] hat jüngst *Blum* eine Arbeit „Über eine neue Klasse von Verbindungen der Eiweisskörper" veröffentlicht.

Es gelang ihm, auf folgende Weise einen neuen Eiweisskörper herzustellen.

Das Eiweiss von frischen Hühnereiern wird mit Wasser verdünnt, wodurch ein Niederschlag von Globulinen entsteht, der abfiltriert werden kann, sodass eine Lösung resultiert, die nur noch Ovoalbumin und das jüngst von *Mörner*[2] beschriebene Ovomukoid enthält.

Diese Mischung, die sich beim stärkeren Erhitzen unter Ausfällen von dichten Flocken trübt, verliert sofort ihre Gerinnbarkeit, wenn man ihr wenige Tropfen von

[1] Bd. XXII, Heft 2, Seite 127.

[2] Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 18, Seite 525.

Formol[1] zusetzt, und behält diese Unfähigkeit zu koagulieren auch dann bei, wenn die Flüssigkeit durch Kochen stark eingeengt wird.

Anfänglich versuchte *Blum* die Abwesenheit des Aldehyds in der fertigen Substanz durch das Verhalten der Lösung gegen Fuchsinschweflige Säure festzustellen; Aldehyde geben mit diesem Reagens eine schöne Rotfärbung, die selbst durch die geringsten Spuren von Formaldehyd noch hervorgerufen wird.

Da aber trotz wiederholten Einengens der Eiweisslösung es nie so weit kam, dass die Rotfärbung mit dem Reagens ausblieb, so prüfte er das Verhalten von frischem, unter allen Kautelen entnommenen Eiereiweiss und fand, dass hier eine starke Reaktion eintrat. Geronnenes Eiweiss verhielt sich ebenso.

Nach dieser Beobachtung wurde die Mischung nur noch so lange im Destillationsapparate gekocht, bis weder der Destillationsrückstand mit ammoniakalischer Silberlösung, noch das Destillat innerhalb einer Stunde mit Fuchsin-schwefliger Säure eine positive Aldehydreaction ergab; je nach der Konzentration besitzt die Lösung eine mehr oder minder intensiv gelbbraune Färbung, einen ganz schwach süsslichen Geschmack und jenen eigentümlichen Geruch nach frischem Eiweiss.

---

[1] Formol ist die 40 prozentige Lösung von Formaldehyd.

Sobald die Flüssigkeit auf dem Wasserbade eingedunstet wird, bilden sich an der Oberfläche durchscheinende Membrane, die eine im Wasser unlösliche Modifikation des Eiweisses darstellen; wird dieselbe jedoch unter Luftabschluss eingeengt, so erhält man das Eiweiss in trockenem Zustande bei erhaltener *Löslichkeit und Ungerinnbarkeit.*

Dieses getrocknete Eiweiss ist durchscheinend und von hellgelber Farbe; es ist löslich in heissem Wasser, selbst nach Zusatz von konzentrierter Kochsalz- oder Glaubersalzlösung. Die Reaktion ist neutral.

Reagentien gegenüber verhält es sich folgendermassen:

Mit alkalischer Kupferlösung tritt eine allmälig intensiver werdende Violettfärbung auf (Biuretreaktion).

Essigsäure + konzentrierte Schwefelsäure ruft langsam eine schöne Rotfärbung hervor (*Adamkiewiez*'sche Reaktion).

Die Xanthoproteinreaktion fällt positiver aus; ebenso die *Millon*'sche.

Mineralsäuren, sowie Essigsäure bringen das Eiweiss zum Ausfällen, im Überschuss ist es wieder löslich.

In der Essigsäurelösung tritt durch Ferrocyankalium Fällung ein.

Tannin, sowie Salze von Schwermetallen geben einen Niederschlag.

Verdünnte Alkalien rufen keine sichtbare Veränderung hervor.

Konzentrierte Natronlauge lässt die Lösung zu einer gelatinösen Masse erstarren, die bei geringem Wasserzusatz wieder in Lösung geht.

Versetzt man eine beliebig konzentrierte Lösung mit $^1/_{10}$ Normal-Salzsäure, so entsteht zunächst eine Fällung, die aber bei weiterem Zusatz von Säure sich wieder löst.

Bis zum positiven Ausfall der Phloroglucin-Vanillinreaktion verbraucht 1 gr des löslichen Trockeneiweisses nicht ganz 2 ccm Normal-Salzsäure. Giebt man zu dieser Acidalbuminlösung Glaubersalzlösung zu, so fällt schon in der Kälte fast alles gelöste Eiweiss aus, denn das Filtrat der Flüssigkeit giebt mit alkalischer Kupferlösung nur noch eine schwache Biuretreaktion.

Eine Peptonisation hat also bei dem langen Erhitzen nicht stattgefunden.

Kocht man die Eiweisslösung mit Kalilauge, so tritt eine reichliche Ausscheidung von Schwefelblei auf.

Beim Kochen der Eiweisslösung mit Salzsäure färbt sich die Flüssigkeit rosa und nimmt reduzierende Eigenschaften gegenüber alkalischem Kupferoxyd an.

Die letztgenannten Reaktionen können auf das nicht abgetrennte Ovomukoid eventuell zurückgeführt werden.

Es entsteht nun die Frage, welcher Gruppe von Eiweisskörpern die aus dem Eiereiweiss durch die Behandlung mit Formol entstandene Eierweissart angehört.

Von den ursprünglichen Ovoalbuminen unterscheidet sie sich sehr prägnant durch die mangelnde Gerinnbarkeit in siedendem Wasser, sowie durch die Fällbarkeit mittelst Alkohol oder Aceton ohne nachweisbare Strukturveränderung, denn während Ovoalbumin zwar durch beide Flüssigkeiten fällbar ist, nachher aber in Wasser unlöslich bleibt, behält die neue Eiweissart ihre Löslichkeit auch nach der Alkoholbehandlung bei.

Blum's Ansicht ist, dass hier eine neue Gruppe von Eiweisskörpern gegeben ist, die mittelst Formaldehyd aus den ursprünglichen Albuminen entstanden sind.

Dieser Gruppe sollen nicht nur die eben geschilderte Substanz, sondern noch mehrere andere angehören, von denen er vorläufig nur noch das Serumalbumin erwähnt. Auch dieses soll unter Einwirkung von Formol ungerinnbar durch Hitze werden und sich in fast allen Reaktionen dem aus dem Eiereiweiss erhaltenen Produkte analog verhalten.

Blum's Ansicht geht dahin, dass sich bei der Entstehung der geschilderten Substanzen ein synthetischer Prozess am Eiweissmolekül abspielt, den er sich in der Weise denkt, dass der Formaldehyd mit, sei es Amido-, sei es Hydroxylgruppen oder anderen unter Wasseraus-

tritt in Reaktion getreten ist, so dass alsdann Methylenverbindungen der Albumine resultierten.

$$\begin{matrix} -NH_2 \\ -NH_2 \end{matrix} + CH_2O = \begin{matrix} NH \\ NH \end{matrix} > CH_2 + H_2O$$

oder:

$$-NH_2 + CH_2O = -N = CH_2 + H_2O.$$

Diese Methylenverbindungen der Albumine bilden die neue Eiweissart, deren Hauptmerkmale nochmals zusammengefasst werden sollen:

Fehlen jeder Gerinnbarkeit beim Sieden der Lösung, hohe Wasserlöslichkeit; Fällbarkeit durch Säuren, durch Alkohol oder Aceton bei erhaltener Löslichkeit auf neuerlichen Wasserzusatz.

Dieses den genuinen Albuminen nahestehende Eiweisspräparat wird von *Blum* „Protogen“ genannt; die Herstellung desselben ist den Höchster Farbwerken übertragen worden.

Am Schlusse seiner Arbeit erwähnt *Blum*, dass diese neuen Körper dem Studium der Bakteriologie und Nahrungsmittelchemie in Zukunft möglicherweise förderlich sein könnten.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. *Rubner* versuchte ich das in den gewöhnlichen Pepton-Kochsalz-Nährböden enthaltene Pepton durch diesen Körper zu ersetzen.

Herstellung bakteriologischer Nährböden mit Hülfe des „Protogens“.

Äussere Umstände veranlassten es, dass ich während der ersten Zeit meiner Beschäftigung mit der vorliegenden Arbeit nicht im Besitze des von den Höchster Farbwerken dargestellten fertigen Präparates war; somit blieb mir der einzige Weg es selbst herzustellen und ich verfuhr dabei derart, dass ich das Eiweiss von drei Hühnereiern nahm, mit der doppelten Menge Wasser verdünnte und darauf die Flüssigkeit mit einem Schaumschläger behandelte, um eine möglichst gleichmässige Verteilung zu bewirken.

Die angewandte Menge des Hühnereiweisses betrug 80 gr. Im Eierweiss ist nun nach *Rubner's* Angabe[1] etwa 13,3 % Albumin enthalten; demnach entsprach das genommene Quantum 10 gr der festen Substanz. Die durch Schlagen erhaltene Flüssigkeit wurde mit vier Tropfen Formalin versetzt und ein wenig erhitzt, um den Überschuss des Formalins wieder zu vertreiben.

Das in üblicher Weise hergestellte Fleischwasser (1000 gr) wurde mit

1. 100 gr Gelatine,
2. dem frisch hergestellten gelösten Eiweiss und
3. mit 5,0 Kochsalz versetzt,

[1] Lehrb. d. Hygiene, 3. Aufl. 1890, S. 562.

das Gemisch behufs Aufquellung einige Minuten stehen gelassen und bei 40—50° gelöst; dasselbe wurde hierauf mittelst Natriumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaktion neutralisiert, ca. 1 Stunde im Wasserbade bei 100° gekocht und nach nochmaliger Prüfung auf die Reaktion filtriert.

Die erhaltene Nährgelatine war fast vollkommen ungefärbt, trübte sich beim Kochen nicht und wurde, da sie bis dahin allen Anforderungen entsprach, in Reagensgläser gefüllt und in gewöhnlicher Weise *diskontinuierlich* im Dampfe sterilisiert.

Nach *Günther's*[1] Empfehlung habe ich hierbei die Sterilisierung der Reagensgläser vor der Füllung fortgelassen.

Aus derselben Fleischsorte hatte ich auch gewöhnliche Nährböden mit Pepton hergestellt, um bei den folgenden Versuchen die neu hergestellte Gelatine mit der gewöhnlichen vergleichen zu können; besonderes Gewicht wurde auf gleiche Hitzegrade und gleiche Zeitdauer beim Kochen, sowie auf möglichst gleiche Alkalescenz gelegt.

In entsprechender Weise stellte ich mir auch Nährbouillon und Nähragar, sowohl mit Hilfe des neuen Eiweisskörpers, als auch in üblicher Weise her.

---

[1] Einführung in d. Stud. d. Bakteriologie, 4. Aufl. 96, S. 122.

Da ich bei diesen ersten Versuchen den neuen Eiweisskörper nicht in trockenem Zustande, sondern in einer (ca. 4 proz.) wässrigen Lösung dem Fleischwasser zusetzte, so resultierten Nährböden, welche erheblich wasserreicher resp. weniger konzentriert waren, als es bei den sonst üblichen und auch von mir hergestellten Kontrollnährböden der Fall ist.

Was speziell die Gelatine angeht, so müssen selbstverständlich die Wachstumserscheinungen auf einem dünneren Nährboden anders ausfallen, als auf einem konzentrierteren, besonders, wenn es sich um höhere Zimmertemperatur und um verflüssigende Bakterienarten handelt.

Aus dieser Überlegung heraus verfuhr ich bei den ferneren Versuchen in der Weise, dass ich zu der mir oben bemessenen Quantität Eiweisslösung, welche mit dem Fleischwasser vermischt war, eine entsprechend grössere Quantität Gelatine (und Kochsalz) hinzufügte, d. h. ich nahm 240 ccm der Eiweiss-Formalinlösung, 1000 ccm Fleischwasser und setzte zu diesen 1240 ccm Flüssigkeit 124 gr Gelatine und 6,2 gr Kochsalz.

Wie sich in der Folge ergab, waren die Wachstumserscheinungen, die die verschiedensten Bakterienarten auf den beiden so hergestellten, in der Konzentration etwas differierenden Protogen-Nährgelatinen zeigten, vollständig identische.

Herstellung der Nährböden aus Höchster „Protogen".

Zu 1000 ccm Fleischwasser hatte ich 10 gr des fertigen Protogens und 5 gr Kochsalz zugefügt und war in derselben Weise vorgegangen, wie es bei der Herstellung der gewöhnlichen Nährböden üblich ist.

Es resultierten klare, durchsichtige Nährböden, die zum Unterschiede von den aus Hühnereiweiss mit Formalinzusatz hergestellten mehr gelblich gefärbt waren.

Ich bemerke hierbei ausdrücklich, dass in den Wachstumserscheinungen die beiden Protogenpräparate keine wesentlichen Unterschiede zu erkennen gaben.

Kulturversuche mit den Protogen-Nährböden.

Das bei den Versuchen verwandte Bakterienmaterial wurde in folgender Weise ausgesucht:

1. Pathogene Arten:

Bac. anthracis
„ Cholerae
„ Coli commun
„ diphtheriae
„ typhi abd.
Micrococ. tetragenus.
Staphylococc. pyog. aur.
Streptococc. pyog.

2. Nicht pathogene Arten:

Bac. subtilis
„ mycoides
„ prodigiosus
„ violaceus
Sarcina lutea.

I. Gelatine-Stichkulturen.

Die Resultate (die Details siehe in Tabelle I) waren im allgemeinen die folgenden:

Fast alle erwähnten Spezies zeigten mehr oder minder schnelleres Wachstum auf der Protogen-Gelatine gegenüber der gewöhnlichen Peptongelatine; ganz besonders war dies, was die nicht pathogenen Arten angeht, bei den verflüssigenden und chromogenen Arten der Fall. Von den pathogenen Arten wuchsen Milzbrand, Cholera und Streptococcen auf dem neuen Nährboden besser als auf der gewöhnlichen Gelatine.

TABELLE I.

Bakterienarten.	Gewöhnliche Fleisch-wasser-Pepton-Gelatine.	Fleischwasser-Protogen-Gelatine.
Bacillus anthracis.	Nach 24 Stunden ist nur eine geringe Entwicklung sichtbar.	Nach 24 Stunden sieht man bereits eine vorgeschrittenere Entwicklung und den Beginn einer Verflüssigung.
	Nach 2 Tagen tritt dieselbe ein und verbreitet sich mehr über die Oberfläche.	Dieselbe ist nach zwei Tagen deutlicher sichtbar und geht auch mehr in die Tiefe.
	Vom Impfstiche dringen nach 8 Tagen zarte Fäden in die Gelatine.	In derselben Zeit sieht man ausserdem die Bacillen am Boden des Verflüssigungstrichters, und von den tiefsten Stellen dringen Fortsätze in die unverflüssigte Gelatine ein.

Bakterienarten.	Gewöhnliche Fleischwasser-Pepton-Gelatine.	Fleischwasser-Protogen-Gelatine.
Bacterium Coli commun.	Nach 3 Tagen deutliches Wachstum erkennbar. An der Oberfläche Häutchenbildung mit unregelmässig gebuchtetem Rand; längs des Stichkanales treten weisse Knöpfchen auf.	Ein annähernd gleiches Wachstum schon nach 2 Tagen sichtbar. Die Ausbreitung zeigt sich grösser und stärker, ebenso der Stich selbst, als nebenstehend angegeben.
Vibrio Cholerae.	Nach 24 Stunden sieht man eine sehr schwache Verflüssigung, die sich mehr an der Oberfläche in die Breite ausdehnt.	Die Verflüssigung tritt in derselben Zeit etwas stärker hervor und geht mehr in die Tiefe.
	Durch die Verdunstung erscheint eine runde Luftblase, in der obersten trichterförmigen Vertiefung, von der ein dünner Faden längs des Impfstiches läuft.	Die Bakterienmasse geht entsprechend der Verflüssigung ebenfalls in die Tiefe. Die Luftblase erscheint infolge der schmäleren Ausbreitung weniger deutlich.
	Nach 4 Wochen ist die ganze Gelatinemasse verflüssigt.	Nach 20 Tagen ist vollständige Verflüssigung eingetreten.
B. diphtheriae.	Die Stichkultur lässt kleine weisse Pünktchen erscheinen und zwar nach 3 Tagen bei 22° C.	Die Pünktchen erscheinen bei gleicher Temperatur zwar früher, jedoch sind sie nicht so gross.

Bakterienarten.	Gewöhnliche Fleisch-wasser-Pepton-Gelatine.	Fleischwasser-Protogen-Gelatine.
	Im Impfstich nach 24 Stunden bei 20° C. noch kein deutliches Wachstum.	Auch hier war nach 24 Stunden ein Wachstum noch nicht erkennbar.
Typhusbacillus.	Nach drei Tagen zeigten sich ca. $^1/_2$ mm grosse kugelige Wucherungen längs des Impfstiches; an der Oberfläche ein feines Häutchen.	Die Wucherungen waren nach 3 Tagen nicht grösser als nebenstehend angegeben, jedoch hatte sich das Häutchen mehr ausgebreitet.
Micrococcus tetragenus.	Nach 3 Tagen sind isolierte scharf begrenzte Wucherungen längs des Impfstiches erkennbar; dieselben erscheinen auf der Oberfläche glänzend weiss.	Die in derselben Zeit und bei gleicher Temperatur hervortretenden Wucherungen zeigten ein gleiches Aussehen, bis auf die Oberfläche, die sich stärker entwickelt hatte.
	Nach 24 Stunden bei 20° eine Verflüssigung noch nicht sichtbar.	Die Verflüssigung war in derselben Zeit noch nicht hervorgetreten.
Staphylococcus pyogenes aureus.	Erst am dritten Tage trat dieselbe ein und zwar längs des ganzen Impfstiches.	Jedoch konnte man sie am 2. Tage deutlich erkennen. Die Verflüssigung ging auch mehr als bei der Pepton-Gelatine in die Breite.

Bakterienarten.	Gewöhnliche Fleisch-wasser-Pepton-Gelatine.	Fleischwasser-Protogen-Gelatine.
Streptococcus pyogenes.	Nach 24 Stunden keine Entwicklung. Nach 48 Stunden zeigt sich um den Einstich herum eine feine dünne Wucherung.	Auch hier ist eine Entwicklung noch nicht sichtbar. Die in gleicher Zeit hervortretende Wucherung war kräftiger als in der Pepton-Gelatine.
Bac. subtilis.	Nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur mässige Verflüssigung.	Die Verflüssigung hatte in derselben Zeit auffallende Fortschritte gemacht.
	Der Impfstich zeigte am unteren Ende noch keinerlei Entwicklung.	Hier hatte sich der Impfstich auffallend vergrössert.
	Nach 4 Tagen Verflüssigung längs des ganzen Impfstiches.	Nach 3 Tagen war fast die ganze Gelatine verflüssigt.
Bac. mycoides.	Sehr zarte Fäden gehen nach 24 Stunden vom Impfstich aus, eine Verflüssigung ist noch nicht sichtbar. Erst nach 48 Stunden trat dieselbe ein. Nach 6 Tagen hatte sich das Fadennetz deutlich vergrössert.	Die Verflüssigung liess sich bereits nach 24 Stunden konstatieren. Das vom Impfstiche ausgehende feine verzweigte Netz von Fäden zeigte sich schon in dieser Zeit kräftig entwickelt, während es nach 4 Tagen auffallend stärker hervortrat.

Bakterienarten.	Gewöhnliche Fleischwasser-Pepton-Gelatine.	Fleischwasser-Protogen-Gelatine.
Bac. violaceus.	Nach 24 Stunden schwache Verflüssigung.	Dieselbe war in gleicher Zeit deutlicher sichtbar.
	Nach 3 Tagen hatte sie sich längs des Impfstiches gleichmässig ausgedehnt; es trat nur eine schwache Trichterbildung ein, ebenso entwickelte sich in dieser Zeit wenig Farbstoff.	Schon nach 2 Tagen war die Verflüssigung wesentlich stärker hervorgetreten, als nebenstehend angegeben, ebenso der Trichter. Am Boden des Trichters war bereits deutliche Farbstoffbildung sichtbar.
	Verflüssigung nach 24 Stunden bei 22° C. sichtbar.	Dieselbe war in derselben Zeit stärker.
Bac. prodigiosus.	Nach 48 Stunden Trichterbildung; derselbe zeigte sich mehr tief, als breit. Nach 5 Tagen bildete sich allmählich roter Farbstoff.	Der nach 48 Stunden deutlich sichtbare Trichter war breiter, als in der Pepton-Gelatine, jedoch nicht so tief. Auch trat in dieser Zeit bereits Farbstoffbildung ein.
Sarcina lutea.	Nach 24 Stunden sieht man nur eine sehr schwache Entwicklung und zwar auf der Oberfläche.	Die Entwicklung ist nach 24 Stunden zwar noch schwach, jedoch schon deutlicher als auf der Pepton-Gelatine.
	Dieselbe verstärkt sich nur sehr langsam. Nach 12 Tagen beginnt die Verflüssigung der Gelatine.	Nach 3 Tagen unvergleichlich kräftigere Entwicklung. Nach 8 Tagen Verflüssigung.

II. Gelatineplatten.

a. Wasserplatten.

Hierzu nahm ich Spree- und Leitungswasser. Ersteres war entnommen aus dem Flusse mitten in der Stadt und zwar Anfang Dezember. Ich verdünnte das Spreewasser mit der 20fachen Menge sterilisierten Wassers und stellte von dieser Verdünnung, ebenso von dem Leitungswasser je drei Platten (gewöhnliche Nährgelatine sowie die beiden oben genannten Protogen-Gelatinen) her, welche je $^1/_2$ ccm des betreffenden Wassers enthielten.

Die vergleichende Betrachtung der auf den verschiedenen Platten zur Entwicklung kommenden Kolonien ergab, dass dieselben auf den Protogen-Gelatinen sowohl in Anzahl wie in Grösse die auf der gewöhnlichen Gelatine gewachsenen übertrafen.

Um an einzelnen typischen Wasserbakterienarten die verschiedenen benutzten Nährböden vergleichen zu können, stellte ich vergleichende Plattenkulturen mit dem Materiale einer fluorescierenden, nicht verflüssigenden und einer lebhaft verflüssigenden Art (kleine lebhaft bewegliche Stäbchen) an.

Die Platten liessen auffallende Unterschiede konstatieren.

Während auf dem peptonhaltigen Nährboden die Grösse der verflüssigenden (Art) Kolonien $^1/_6$—$^1/_5$ mm betrug, war dieselbe auf dem neuen Nährboden $^1/_3$ bis $^1/_2$ mm. Nach einigen Tagen war die Protogen-Gelatine fast vollends verflüssigt, während die Pepton-Gelatine zum grossen Teil noch fest war. Die fluorescierende Art zeigte in Grösse der Kolonien ungefähr dieselben Differenzen.

b. Luftplatten.

Hierbei bediente ich mich *Petri*'scher Schälchen, welche dicht nebeneinander stehend gleiche Zeit (ca. $^1/_2$ Stunde) der Luft exponiert wurden.

Sehr wesentliche Differenzen in der Anzahl und Grösse der sich entwickelnden Kolonien wurden bei diesem Versuche nicht gefunden. Es schien allerdings, als wenn mehrere Arten, speziell die gelbe Sarcina, ferner auch Penicillium glaucum auf dem neuen Nährboden grössere Kolonien bildeten.

c) Von weiteren vergleichenden Plattenversuchen erwähne ich nur noch eine Cholerauntersuchung, die derart ausgeführt wurde, dass ich frische Cholerabouillon und hiervon mittelst (starker) Pipette verschiedene Verdünnungen herstellte, um auf den Platten mit Sicherheit isolierte, genügend weit auseinandergehende Kolonien zu erzielen.

Sehr wesentliche, ohne Weiteres in die Augen fallende Differenzen zwischen dem alten und neuen Nährboden zeigten sich an diesen Choleraplatten nicht. Allgemein wurde aber der Eindruck gewonnen, dass die Entwicklung auf der Protogen-Gelatine eine etwas kräftigere war: sowohl die Grösse der Kolonien, wie auch die Schnelligkeit der Verflüssigung war hier sicher eine etwas bedeutendere als auf den mit gewöhnlicher Gelatine angelegten Kontrollplatten.

III. Bouillonkulturen.

Die in analoger Weise, wie vorher erwähnt, hergestellte Protogen-Bouillon benutzte ich zu weiteren Versuchen.

Von besonderem Interesse war es mir, Vergleiche mit Impfungen von Hühnercholera und Streptococcen anzustellen.

Hühnercholera gab keinen auffallenden Unterschied von den Pepton-Bouillonkulturen, während die Streptococcen in der Protogen-Bouillon unvergleichlich stärker wuchsen.

Was das mikroskopische Bild angeht, so zeigte die Untersuchung der mit Streptococcen geimpften Protogen-Bouillon nach eintägiger Entwicklung bei 37° sehr viel längere Ketten als die Kontrollkultur in Pepton-Bouillon.

Weiter prüfte ich das Verhalten von Protogen-Bouillon, die mit 2 Proz. Traubenzucker versetzt und in Gährungskölbchen eingefüllt war, dem Bakter. Coli gegenüber.

Es zeigte sich bei diesem Versuche zwar eine stärkere Trübung und ausgiebigere Gasbildung als bei dem gleichzeitig angestellten Kontrollversuche mit Traubenzucker-Pepton-Bouillon; indessen möchte ich in Anbetracht der quantitativen Differenzen, welche man in dieser Beziehung bei verschiedenen Proben von gewöhnlicher Bouillon bemerken kann, auf diesen Punkt nicht viel Gewicht legen.

IV. Agar-Oberflächenkulturen.

Nähragar wurde in analoger Weise wie die anderen Nährböden hergestellt.

In der folgenden Tabelle (II) sind die Resultate der mit Protogen-Agar angestellten und der gleichzeitig vorgenommenen Kontrollversuche mit gewöhnlichem Agar aufgeführt.

Die hierbei in Betracht kommenden Bakterienarten waren folgende:

Vibrio Cholerae.

Diplococcus pneumoniae.

Hühnercholera.

Streptococcus pyog.

Staphylococc. aur.

Betreffs der Resultate lässt sich Folgendes sagen:

Das Wachstum auf dem Protogen-Agar zeigte sich von dem auf gewöhnlichem Pepton-Agar im allgemeinen nicht erheblich different; auffallend besser wuchsen auf dem neuen Boden:

Hühnercholera und Streptococcen.

Agar - Oberflächenimpfungen.

TABELLE II.

Bakterienarten.	Fleischwasser-Pepton-Agar.	Fleischwasser-Protogen-Agar.
Hühnercholera (aus frischer 24 stündiger Bouillonkultur abgeimpft.	Bei 37° innerhalb 24 Stunden ein leichter weissgrauer Belag.	Bei gleicher Temperatur und gleicher Zeit zeigte sich ein Hervortreten von deutlicheren körnigen Kolonien.
Streptococcus pyogenes	Nach 24 Stunden bei 37° traten längs des Striches kleine tautropfenähnliche Pünktchen auf, welche sich zu einem bandartigen Streifen ordnen.	Die unter denselben Bedingungen gezüchtete Kultur lässt die einzelnen Kolonien deutlicher erscheinen als nebenstehend angegeben.
Vibrio Cholerae (abgeimpft wie oben).	Bei 37° bildete sich nach 24 Stunden ein ziemlich kräftiger weissgrauer Belag.	Der Belag ist bei 37° vielleicht noch etwas grösser als auf Pepton-Agar.

Bakterienarten.	Fleischwasser-Pepton-Agar.	Fleischwasser-Protogen-Agar.
Diplococcus pneumoniae	Die durch Abimpfung von frischer Bouillon hergestellte Kultur zeigt nach 24stündiger Kultivierung bei Brüttemperatur einen dünnen, durchsichtigen, aus kleinen Tautropfen bestehenden Belag, der sich weiterhin nicht mehr wesentlich veränderte.	Sehr wesentliche Differenzen von der Kultur in Pepton-Agar wurden nicht konstatiert; die auf der ersteren entstehenden Kolonien waren vielleicht etwas grösser.
Staphylococcus pyogenes aur.	Bei 37° bildete sich in 24 Stunden längs des Striches ein dicker Belag, der sich allmählich in die Breite ausdehnte.	Das Wachstum war nach 24 Stunden bei 37° ein etwas stärkeres als auf dem Pepton-Agar.

V. Glycerin-Agar-Oberflächenkulturen.

Die hier in Betracht kommenden Arten sind Tuberkel-, Diphtherie- und Rotzbacillus. Von diesen dreien wuchs nur der letztere wesentlich kräftiger auf dem Protogenboden, als auf dem mit Pepton hergestellten.

Der Übersicht halber folgt auch hier eine Tabelle (III).

TABELLE III.

Bakterienarten.	Pepton-Glycerin-Agar.	Protogen-Glycerin-Agar.
Rotzbacillus	Bei 37° nach 24 Stunden weissliche dünne Ablagerungen.	Längs des Impfstiches entwickelt sich bei 37° C. ein kräftigerer Belag als auf dem Peptonboden.
Tuberkelbacillus	Das Wachstum erfolgt in der bekannten Weise.	Keine wesentliche Differenz konstatierbar.
Bac. diphtheriae	Bei 37° bildeten sich weisse, rundliche Kolonien mit mattem Glanze.	Auch hier war kein auffallender Unterschied zu bemerken.

VI. Kulturversuche mit Anaeroben.

Die Versuche wurden mit Tetanus und Rauschbrand angestellt; es wurden in die in Frage kommenden Nährböden Reinkulturen geimpft. Zur Verwendung kamen 2proz. Traubenzuckergelatine und 2proz. Traubenzuckeragar, die Nährböden waren zum Teil mit Protogen, zum Teil (zur Kontrolle) mit Pepton hergestellt.

Was die Resultate anbelangt, so wurde in dem Wachstum der beiden genannten Mikroorganismen bei

den vergleichenden Untersuchungen auf den Agarnährböden nichts ermittelt, dagegen wuchsen die beiden Arten, speziell der Rauschbrandbacillus, auf der Protogen-Gelatine unvergleichlich besser, als auf der Pepton-Gelatine.

Ergebnis.

Wenn ich am Schlusse dieser Ausführungen mein Urteil über den Wert des Protogen-Nährbodens und über seine Stellung in der Reihe der bisher allgemein gebräuchlichen Nährsubstrate zusammenfasse, so muss ich es als erwiesen betrachten, dass die Anwendung des Protogens bei der Herstellung der Nährböden

1. die meisten Bakterienarten besser gedeihen lässt, als es auf den Pepton-Nährböden der Fall ist;
2. dass die Protogen-Nährböden, wenn man sie unter Anwendung von Hühnereiweiss und Formalin in der von mir geschilderten Weise herstellt, sich billiger stellen, als die Pepton-Nährböden.[1]

[1] Das käufliche Protogen (Meister, Lucius und Brüning) ist in seinem Preise von dem des Peptons nicht wesentlich verschieden: es kostet das Kilo = 35 M. (unter 1 Kilo 38 M.).

VITA.

Verfasser vorstehender Arbeit wurde am 3. Juni 1869 zu Gnesen geboren und widmete sich nach Erlangung der für das Apothekerstudium notwendigen Kenntnisse der Pharmacie.

Im Wintersemester 1893/94 bezog er die Universität Breslau und bestand daselbst im Mai 1895 das pharmaceutische Staatsexamen. Seine weiteren Studien setzte er in Rostock und Berlin fort — Sommer- und Wintersemester 1896 und Sommersemester 1897 — und führte seine Dissertation im hygienischen Institut der Königl. Universität zu Berlin aus.

Er besuchte die Vorlesungen und Institute folgender Herren Professoren:

In Breslau: *O. E. Meyer, Metz, Pax, Poleck.*

In Rostock: *Matthiessen, Michaelis, Falkenberg.*

In Berlin: *Gabriel, Günther, Magnus, Reinhardt, Rubner, Warburg und Blasius.*

Druck von Alb. Sayffaerth, Berlin W.
57 Bülowstrasse 57.